



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Susceptibilidade Genética e Malformações Cardíacas: Análise de HAND2 na Embriopatia da Talidomida
Autor	BRUNA DUARTE RENGEL
Orientador	FERNANDA SALES LUIZ VIANNA

Susceptibilidade Genética e Malformações Cardíacas: Análise de *HAND2* na Embriopatia da Talidomida

Bruna Duarte Rengel^{1,2}, Lucas Rosa Fraga^{1,3}, Fernanda Sales Luiz Vianna^{1,4,5}

¹Laboratório de Genética Médica e Evolução, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ²Bolsista de Iniciação Científica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. ³Professor. Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. ⁴Professora do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil. ⁵ Laboratório de Medicina Genômica, Centro de Pesquisa experimental do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A talidomida foi sintetizada na década de 50 e é muito conhecida por seus potenciais teratogênicos. A exposição intrauterina ao medicamento leva a uma condição conhecida como Embriopatia da Talidomida (TE), a qual consiste no conjunto de malformações, especialmente nos membros, coração, olhos e orelhas. Nos membros, a focomelia é a anomalia mais observada e no coração as anomalias mais comuns são persistência do ducto arterial, defeito do septo ventricular, defeito do septo atrial e estenose pulmonar. *HAND2* é um fator de transcrição envolvido no desenvolvimento de diversos órgãos, principalmente do coração e membros, e é codificado pelo gene de fita reverse *HAND2*, o qual possui dois éxons. Recentemente, um estudo identificou que *HAND2* interage com *TBX5* e que essa interação é inibida na presença de talidomida. Este estudo teve como objetivo avaliar o papel de *HAND2* na susceptibilidade genética à TE.

Metodologia: O DNA foi extraído de amostras de saliva de 35 indivíduos afetados pela TE. Realizou-se PCR para amplificação e sequenciamento Sanger dos éxons de *HAND2*. As sequências obtidas foram lidas usando o programa CodonCode® Aligner v.3.0.1. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi calculado por teste qui-quadrado. As análises *in silico* foram efetuadas por meio dos programas PredictSNP2 e MutationTaster para predições de efeito das variantes na proteína; Human Splicing Finder para sítios de splicing; miRBase para sítios de miRNA; MethPrimer para alteração em ilhas CpG; Enhancer Atlas 2.0 para sítios de reforçadores; e pacote do R motifbreakR para alterações em sítios de fatores de transcrição. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SPSS v.18.

Resultados: Dentre os indivíduos avaliados, 12% (3/25) apresentam anomalias cardíacas congênitas e 52% (10/19) desenvolveram efeitos cardíacos ao longo da vida (hipertensão, infarto agudo do miocárdio, colesterol alto e acidente vascular cerebral hemorrágico). Na avaliação do gene *HAND2*, observou-se uma variante polimórfica sinônima p.P51 (rs59621536) no éxon 1 de 3 indivíduos dos 31 avaliados para esse éxon. Não foi observada nenhuma variante no éxon 2 dos 35 pacientes avaliados. As frequências genotípicas e alélicas de p.P51 foram diferentes entre o grupo TE e amostra de referência (banco de dados GnomAD) ($p=0,005$; $p=0,003$, respectivamente). Nas análises *in silico*, a variante foi classificada como neutra, sem alterações em sítios miRNA e sítios de *splicing*. Observou-se a alteração de duas ilhas CpG adjacentes à variante e modificação de sítios de ligação dos fatores de transcrição MECP2 e PLAG1. Além disso, p.P51 também está na região promotora de *HAND2-AS1*, o qual está na fita *forward* na mesma localização de *HAND2*.

Conclusão: A variante p.P51 parece afetar a regulação de *HAND2* por meio de alterações à nível epigenético já que não altera a estrutura proteica mas leva modificação de duas ilhas CpG e do sítio de ligação de MECP2, que realiza a regulação de sequências metiladas.